Test CEDIA® Méthadone

Thermo SCIENTIFIC

IVD **Pour Usage Diagnostique In Vitro**

REF 10016425 (3 x 17 mL Indiko Kit)
100088 (Coffret de 3 x 17 mL)
100097 (Coffret de 65 mL)
1730916 (Coffret de 495 mL)

Application
Le test CEDIA® Méthadone est un dispositif médical de diagnostic in vitro permettant le dosage qualitatif et semi-quantitatif de méthadone dans l'urine humaine.

Ce test ne fournit qu'un résultat préliminaire. Il est nécessaire de confirmer les résultats analytiques obtenus à l'aide d'une méthode chimique alternative de diagnostic plus spécifique. Utiliser alors de préférence la chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM).[1] Les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du tableau clinique et de l'avis d'un professionnel avant de conclure à une drogue utilisée par les toxicomanes, en particulier si des résultats positifs préliminaires sont utilisés.

Résumé et description du test
La méthadone est un agoniste synthétique de l'opium dérivé du diphénylheptane, qui a initialement été synthétisé par des chimistes allemands pendant la seconde guerre mondiale.[2,3] Elle est utilisée comme substitut oral de l'héroïne et d'autres drogues proches de la morphine pour supprimer les symptômes de sevrage et/ou limiter les rechutes chroniques des héroïnomanes[2-7] L'activité pharmacologique de la méthadone est très semblable à celle de la morphine, la différence étant que la méthadone produit des effets fiables lorsqu'elle est administrée par voie orale.[3-5,7] De façon générale, son potentiel d'abus est comparable à celui de la morphine.[4,7]

La méthadone est facilement absorbée par l'appareil gastro-intestinal et peut être détectée dans le plasma dans les 30 minutes suivant son ingestion.[2,7] Elle se lie fortement aux protéines tissulaires, entraînant des effets cumulatifs et une élimination lente.[2]

Le test CEDIA Méthadone utilise la technologie de l'ADN recombinant (brevet américain n° 4708929) pour produire une méthode immuno-enzymatique en phase homogène unique.[8] Ce test utilise l'enzyme bactérienne β-galactosidase scindée au préalable en deux fragments inactifs par génie génétique. Ces fragments se réassocient spontanément pour former une enzyme pleinement active qui, lors de la réaction, fragmente un substrat, produisant un changement de coloration que l'on peut mesurer par spectrophotométrie.

Au cours du test, la drogue contenue dans l'échantillon entre en compétition avec la drogue conjuguée à un des fragments inactifs de la β-galactosidase pour se fixer sur les sites de liaison des anticorps. Si la drogue est présente dans l'échantillon, elle se lie aux anticorps, laissant ainsi les fragments inactifs de l'enzyme former une enzyme active. Si l'échantillon ne contient pas de drogue, les anticorps se lient à la drogue conjuguée au fragment inactif, prévenant la réassociation des fragments inactifs de β-galactosidase, ce qui empêche la formation d'une enzyme active. La quantité d'enzyme active formée et la modification de l'absorbance correspondante sont proportionnelles à la quantité de drogue dans l'échantillon.

Réactifs
- **1 Tampon de reconstitution EA:** Contient un tampon de N-pipérazine, N-bis [2 -acide éthane sulfonique], 3,8 mg/L d'anticorps monoclonaux dirigés contre la méthadone, sels tampons, stabilisant et conservateur.
- **1a Réactif EA:** Contient 0,171 g/L d'EA, sels tampons, détergent et conservateur.
- **2 Tampon de reconstitution ED:** Contient N-pipérazine, N-bis [2 -acide éthane sulfonique], sels tampons et conservateur.
- **2a Réactif ED:** Contient 0,0154 mg/L d'ED conjugué à un dérivé de méthadone, 1,67 g/L de chlorophénol rouge-β-D-galactopyranoside, stabilisant et conservateur.

Matériel supplémentaire: Étiquettes à code-barres de remplacement (réf. 100088 et 100097 seulement. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour le mode d'emploi). Flacon vide d'analyseur pour le transvasement des solutions EA/ED (réf. 100097). Flacon vide d'analyseur pour le transvasement des solutions ED (seulement réf. 1730916).

Matériel supplémentaire requis (vendu individuellement) :
Calibrateur négatif CEDIA
Calibrateur à Seuil PPX/METD CEDIA
Calibrateur moyen PPX/METD CEDIA
Calibrateur élevé PPX/METD CEDIA
Groupe de témoins multi-drogues CEDIA

⚠ Avertissements et mises en garde
Les réactifs contiennent de l'azide de sodium. Éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. En cas de contact, rincer à grande eau. En cas de projection dans l'œil ou d'ingestion, consulter immédiatement un médecin. L'azide de sodium peut réagir dans les conduites de plomb ou de cuivre et former des azides métalliques explosifs. Pour éliminer les réactifs, il est donc nécessaire de rincer abondamment à l'eau afin d'éviter toute accumulation d'azides. Nettoyer les surfaces métalliques exposées avec de la soude caustique à 10%.

Préparation et conservation des réactifs
Voir ci-dessous la préparation des solutions pour les analyseurs Hitachi. Pour tous les autres analyseurs, se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil. Sortir le coffret du réfrigérateur immédiatement avant la préparation des solutions.

Préparer les solutions dans l'ordre ci-dessous afin de réduire le risque d'une éventuelle contamination.

Solution ED R2: Relier le flacon 2a (réactif ED) au flacon 2 (tampon de reconstitution ED) à l'aide de l'un des raccords fournis. Mélanger par retournements lents, en veillant à ce que le lyophilisat du flacon 2a soit entièrement transvasé dans le flacon 2. Éviter la formation de mousse. Détacher du flacon 2 le flacon 2a et le raccord, et les jeter. Reboucher le flacon 2 et le laisser reposer pendant environ 5 minutes à température ambiante (15 à 25°C). Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Solution EA R1: Relier le flacon 1a (réactif EA) au flacon 1 (tampon de reconstitution EA) à l'aide de l'un des raccords fournis. Mélanger par retournements lents, en veillant à ce que le lyophilisat (flacon 1a) soit entièrement transvasé dans le flacon 1. Éviter la formation de mousse. Détacher du flacon 1 le flacon 1a et le raccord, et les jeter. Reboucher le flacon 1 et le laisser reposer pendant environ 5 minutes à température ambiante (15 à 25°C). Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Réf. 100097 - analyseur Hitachi 717, 911, 912 ou 914: Transvaser les réactifs reconstitués dans les flacons vides correspondants de 100 mL R1 et R2 fournis avec le coffret.
Analyseur Hitachi 917/Système Modular Analytics P: Utiliser les réactifs reconstitués sans transvaser les flacons. Jeter les flacons de 100 mL vides.
Réf. 1730916 - Analyseur Hitachi 747/Système Modular Analytics D: À l'aide de l'entonnoir fourni, transférer une partie de la solution R2 dans le flacon de solution R2 vide fourni et portant l'étiquette correspondante.

REMARQUE 1: Les composants contenus dans ce coffret doivent être utilisés ensemble. Ne pas mélanger de composants provenant de lots différents.
REMARQUE 2: Veiller à ne pas intervertir les bouchons des flacons de réactifs pour éviter toute contamination croisée des réactifs. La solution R2 doit être jaune orangé. Une coloration rouge sombre ou rouge violacé signifie que le réactif est contaminé et doit être éliminé.
REMARQUE 3: Les solutions R1 et R2 doivent être amenées à la température du compartiment de stockage de l'analyseur avant de procéder au test. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour toute information complémentaire.
REMARQUE 4: Pour assurer la stabilité de la solution EA reconstituée, ne pas l'exposer de façon permanente et prolongée à une lumière vive.

Stocker les réactifs entre 2 et 8°C. **NE PAS CONGELER.** Pour la stabilité des composants non ouverts, se référer à la date de péremption figurant sur l'étiquetage de la boîte ou des flacons.

Solution R1: 60 jours réfrigérée dans l'analyseur ou entre 2 et 8°C.
Solution R2: 60 jours réfrigérée dans l'analyseur ou entre 2 et 8°C.

Prélèvement et manipulation des échantillons
Recueillir les échantillons d'urine dans des récipients propres en verre ou en plastique. Centrifuger les échantillons présentant une forte turbidité avant de les analyser. Tout échantillon d'urine humaine doit être manipulé comme étant potentiellement infectieux. Recueillir et tester un nouvel échantillon si on soupçonne une adultération de l'échantillon d'origine. L'adultération des échantillons d'urine peut affecter les résultats du test.

The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs ; Final Guidelines; Notice recommande que tout échantillon qui n'est pas initialement testé dans les 7 jours suivant son arrivée au laboratoire soit conservé dans un réfrigérateur en milieu fermé.[9]

Procédure du test
Pour réaliser ce test, on peut utiliser un analyseur chimique capable de maintenir une température constante, de prélever des échantillons à la pipette, de mélanger des réactifs, de mesurer des taux enzymatiques et d'assurer le minutage de la réaction. Les fiches techniques avec les paramètres spécifiques des instruments sont disponibles auprès de Microgenics, une division de Thermo Fisher Scientific.

Des étiquettes à code-barres supplémentaires sont fournies pour une détermination semi-quantitative seulement avec les coffrets de 17 et de 65 mL. Pour les utiliser, recouvrir l'étiquette de chaque flacon de celle qui convient.

Contrôle qualité et calibration[10]
Analyse qualitative
Pour réaliser une **analyse d'échantillons qualitative,** utiliser le calibrateur à Seuil PPX/METD CEDIA pour analyser les résultats. Se référer à la fiche technique spécifique de chaque analyseur.

Analyse semi-quantitative
Pour réaliser une **analyse d'échantillons semi-quantitative,** utiliser le calibrateur négatif CEDIA et les calibrateurs moyen et élevé à Seuil PPX/METD pour analyser les résultats. Se référer à la fiche technique spécifique de chaque analyseur.

Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent d'analyser les contrôles chaque jour où des échantillons patients sont testés et à chaque fois qu'une calibration est effectuée. Il est recommandé d'utiliser deux niveaux de contrôles : l'un de 25% supérieur au seuil, l'autre de 25% inférieur au seuil sélectionné. Recalibrer le test en cas de changement de réactifs ou si les résultats des contrôles se situent hors des limites établies. L'évaluation du contrôle qualité doit se baser sur les valeurs obtenues par les contrôles, qui doivent se situer dans les limites spécifiées. En cas de détection d'une tendance à la hausse ou à la baisse ou de décalages soudains, on vérifiera tous les paramètres de fonctionnement. Pour plus de renseignements, s'adresser au service technique Microgenics. Toutes les exigences de contrôle qualité doivent être appliquées conformément aux règlements locaux, régionaux et nationaux ou aux conditions d'agrément.

Résultats et valeurs attendus

Résultats qualitatifs

Le calibrateur à Seuil PPX/METD CEDIA, contenant 300 ng/mL de méthadone, sert de référence pour différencier les échantillons positifs des échantillons négatifs. Les échantillons générant une réponse dont la valeur est égale ou supérieure à celle du calibrateur sont considérés comme positifs. Les échantillons générant une réponse dont la valeur est inférieure à celle du calibrateur sont considérés comme négatifs. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour toute information complémentaire.

Résultats semi-quantitatifs

Le calibrateur à Seuil PPX/METD CEDIA, utilisé en conjonction avec les calibrateurs négatif et PPX/METD moyen et élevé, peut être utilisé pour estimer la concentration relative de la méthadone. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour des informations plus détaillées.

Les résultats de concentration doivent être rapportés avec prudence car de nombreux autres facteurs sont susceptibles de fausser les résultats d'un test urinaire, tels que l'apport hydrique et autres facteurs biologiques.

Limitations

1. Un résultat positif au test indique la présence de méthadone; il n'indique ni ne mesure une intoxication.
2. D'autres substances et/ou facteurs non répertoriés peuvent perturber le test et provoquer des résultats erronés (erreurs techniques ou de procédure).

Performances spécifiques

Les résultats de performance effectifs indiqués ci-dessous ont été obtenus avec un analyseur Hitachi 717.[11] Les résultats obtenus dans un laboratoire peuvent être différents de ces données.

Précision

La précision de mesure a été étudiée avec un analyseur Hitachi 717 en utilisant les réactifs, les calibrateurs et les contrôles fournis dans le conditionnement et en suivant un protocole de réplication modifié NCCLS.

Imprécision dans la Série			
ng/mL	225	300	375
n	120	120	120
$\bar{x}$	244,4	292,8	344,0
SD	2,7	3,1	3,8
%CV	1,1	1,0	1,1

Imprécision Totale			
ng/mL	225	300	375
n	120	120	120
$\bar{x}$	244,4	292,8	344,0
SD	7,9	9,6	12,2
%CV	3,2	3,3	3,5

Exactitude

820 échantillons urinaires ont été soumis au test CEDIA Méthadone sur l'analyseur Hitachi 717 en utilisant la méthode EIA disponible dans le commerce comme référence. Les résultats suivants ont été obtenus :

		CEDIA +	CEDIA -
EIA	+	114	0
	-	16*	690

* 16 échantillons ont donné des résultats négatifs avec la méthode EIA et positifs avec le CEDIA ; les valeurs de CG-SM sont les suivantes : 210 à 299 ng/mL dans 12 échantillons et 308 à 319 ng/mL dans 4 échantillons.

Spécificité

Lorsque les molécules mères et les métabolites suivants ont été soumis au test CEDIA Méthadone, ils ont donné les résultats (%) de réactivité croisée suivants :

Substance	Concentrations Testées (ng/mL)	Réactions Croisées (en %)
Alpha-Méthadol	33 333	2,65
EDDP	500 000	0,02
EMDP	100 000	0,03
LAAM	20 000	1,48
Méthadol	25 000	1,50
Méthadone	300	100
Morphine-3-Glucuronide	100 000	0,01
Norpropoxyphène	500 000	0,03
Propoxyphène	500 000	0,03

Des composés à structure non apparentée, soumis au test CEDIA Méthadone, ont donné un résultat négatif aux concentrations énumérées ci-dessous.

Substance	ng/mL	Substance	ng/mL
Acide acétylsalicylique	500 000	Ibuprofène	500 000
Acide salicylurique	500 000	Lévothyroxine	50 000
Amoxicilline	100 000	Méthamphétamine	500 000
Amphétamine	500 000	Morphine	100.000
Benzoylecgonine	500 000	Nifédipine	500 000
Captopril	500 000	Paracétamol	500 000
Chlordiazépoxide	100 000	Phencyclidine	500 000
Cimétidine	500 000	Phénobarbital	500 000
Codéine	500 000	Ranitidine	500 000
Diazépam	500 000	Secobarbital	500 000
Digoxine	100 000	Tolmétine	500 000
Enalapril	500 000	11-nor-Δ^9-THC-COOH	10 000
Fluoxétine	500 000	Vérapamil	500 000

Aucune interférence n'a été observée lorsque les substances suivantes ont été ajoutées aux concentrations endogènes normales trouvées dans les urines soumises au test CEDIA Méthadone :

Substance	Concentrations	Substance	Concentrations
Acétone	≤ 1,0 g/dL	Galactose	≤ 10 mg/dL
Acide ascorbique	≤ 1,5 g/dL	γ-globuline	≤ 0,5 g/dL
Acide oxalique	≤ 0,1 g/dL	Glucose	≤ 3,0 g/dL
Albumine sérique humaine	≤ 0,5 g/dL	Hémoglobine	≤ 0,3 g/dL
Chlorure de sodium	≤ 6,0 g/dL	Riboflavine	≤ 7,5 mg/dL
Créatinine	≤ 0,5 g/dL	Urée	≤ 2,0 g/dL
Éthanol	≤ 1,0 g/dL		

Sensibilité

Pour l'analyse qualitative, la limite de détection se situait à 17,8 ng/mL.

Pour l'analyse semi-quantitative, la limite de détection se situait à 91,5 ng/mL.

Bibliographie

1. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks RL, Chiang, CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph. 1986; 73: 30-41.
2. AHFS drug information. American Hospital Formulary Service, 1992.
3. Julien RM. A Primer of Drug Action. 5th ed. New York, NY: WH Freeman; 1988.
4. Physician's Desk Reference. 49th ed. Montvale, NJ: Medical Economics Data Production Co; 1995.
5. Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology. 6th ed. Norwalk, CT: Appleton & Lange; 1995.
6. Facts and comparisons: Loose-leaf drug information service. St. Louis, MO: Facts and Comparisons; 1990.
7. Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. New York, NY: Pergamon Press; 1991.
8. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD. et.al. CEDIA® a New Homogeneous Immunoassay System. Clin. Chem. 1986; 32:1637-1641.
9. Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program: Final Guidelines, Federal Register, 1994, 110 (June 9): 11983 (Révision des Directives à paraître en 2002.)
10. Les données de traçabilité sont conservées par Microgenics Corporation,une division de Thermo Fisher Scientific.
11. Données conservées par Microgenics Corporation, une division de Thermo Fisher Scientific.

Microgenics Corporation
46360 Fremont Blvd.
Fremont, CA 94538-6406 États-Unis
Soutien client et technique
aux États-Unis :
1-800-232-3342

EC REP
Thermo Fisher Scientific Oy
Ratastie 2, P.O. Box 100
01621 Vantaa, Finland
Tel: +358-9-329100
Fax: +358-9-32910300

Pour des mises à jour de la notice, consulter:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Autres pays:
Contacter le représentant local Thermo Fisher Scientific.

CEDIA est une marque commerciale déposée de Roche Diagnostics.

10006542-2_FR
2012 07

Thermo SCIENTIFIC